

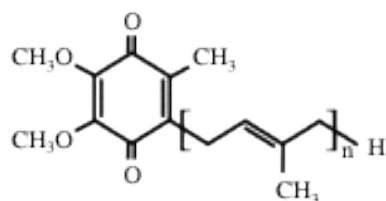
有用な機能性成分を含む微生物の探索

生命工学科 准教授

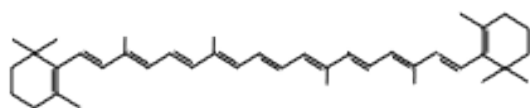
戒能 智宏

目的

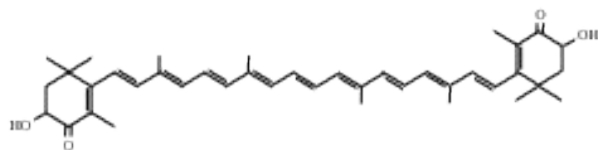
近年、機能性をもつ素材がニュースなどでも数多く取り上げられ、それらを含む食品や栄養補助食品に多くの注目が集まっている。特に、健康増進や抗酸化能をもつ素材は現代の偏った食生活を補完し、長く健康な生活を営むために必要である。コエンザイム Q は細胞におけるエネルギー生産のために重要な



コエンザイム Q₁₀



β-カロテン



アスタキサンチン

物質であり、カロテノイドはトマトに含まれるリコペンや、ニンジンなどのβ-カロテン、甲殻類（エビ、カニ）などのアスタキサンチンなどがよく知られ、家畜飼料や各種食品の色素として利用されている。近年ではこれらの物質の抗酸化作用や抗がん作用などが注目され、サプリメントや化粧品に配合されるなど、産業上も非常に重要な物質である。特に、カロテノイド化合物であるアスタキサンチンはその抗酸化能力と安全性の高さから注目されている物質である。そこで本研究では、山陰地域の豊かな土壌、湖や植物などから多くの試料を集め、カロテノイド化合物を多く含む微生物の探索を行うとともに、より高生産する微生物を育種し活用することを目的としている。

研究成果

有用な物質を微生物を用いて生産する試みは古くから行われている。近年では、遺伝子工学技術が進歩したため物質を合成する酵素の遺伝子を微生物で発現させることにより、生産性を向上させることが広く行われている。しかしながら、今でも天然に存在する微生物を広く集め、少しでも有利な形質をもつ微生物をスクリーニングにより単離することが非常に重要な手段であることに変わりはない。本研究で注目したカロテノイド化合物であるβ-カロテンやアスタキサンチンなどを合成することが出来る微生物は、カロテノイド化合物由来の黄、橙、赤色のコロニーを呈する性質があるため、非生産菌株とはプレート上で非常に容易に判別が可能である。実験では自然界由来の試料を、YPAD (+Amp) プレートに塗布し、30℃で数日間培養し、生育したコロニーのうち着色しているコロニーを単離した。単離した菌から色素類を抽出し、薄層クロマトグラフィーにかけて分離した。約 370 個の試料からスクリーニングした結果、65 個の着色した菌を取得した。最初のスクリーニングで得た 126 個のうち、11 個が赤色を呈した。次に、これらの菌体から色素を抽出して薄層クロマトグラフィー (TLC) で分析した結果、6 個の菌からβ-カロテンが検出された。コロニーの色は赤色に近い色であったにもかかわらず、赤色のアスタキサンチンは検出されず、黄色からオレンジ色の物質であるβ-カロテンが検出された。これは、菌株の培養の時間が短くまだ十分にカロテノイド化合物が蓄積していなかったことが原因として考えられ

る。次に、これらの赤色を呈した菌株から、CoQ を抽出し HPLC で解析を行ったところ、CoQ₁₀ または CoQ₁₁ を合成していた。CoQ₁₀ は、ヒトが合成している CoQ 種であり、サプリメントとしても販売されている産業上非常に有用な物質である。自然界の微生物から CoQ を抽出すると、多くの場合 CoQ₆ から CoQ₈ の場合が多い。赤色酵母である *Rhodospiridium* や *Rhodotorula* は、CoQ₁₀ を合成することが知られており、今回は、赤色を示した菌をスクリーニングしたことから CoQ₁₀ を合成する菌がより効果的に得られたことが考えられる。

社会への貢献

スクリーニングの時に、着色された菌のみを取得することによって、想定したカロテノイド化合物を生産する菌を得るだけでなく、産業上非常に有用な CoQ₁₀ を合成する菌を効果的に取得できる可能性を見出した。将来的には、得られた菌種を同定するとともに、高生産株を育種することでカロテノイド化合物のみならず CoQ₁₀ の生産性の高い菌株を取得することが期待でき、食品及び飼料などへの添加物の生産性向上の分野においての利用も可能になると考えられる。

次年度に向けた検討状況

今回の研究において、カロテノイド化合物と CoQ₁₀ を合成する菌を効果的に取得できる可能性を見出した。現在、培養条件の検討を行いアスタキサンチンの検出が可能かどうか検討している。また、菌種同定のため、rDNA の増幅と塩基配列の確認のための準備を行っている。菌株のスクリーニングは引き続き行い、より生産性の高い菌株の取得と、得られた菌株の高生産株の育種を行う予定である。

公表論文

Hayashi K., Ogiyama Y., Yokomi K., Nakagawa T., Kaino T., Kawamukai M.: Functional conservation of coenzyme Q biosynthetic genes among yeasts, plants, and humans, *PLoS ONE*, 9: e99038 (2014).

Moriyama D., Hosono K., Fujii M., Washida M., Nanba H., Kaino T., Kawamukai M.: Production of CoQ₁₀ in fission yeast by expression of genes responsible for CoQ₁₀ biosynthesis, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* (in press)

学会発表等

1. 戒能智宏：有用な機能性成分を含む微生物の探索 生物資源科学部ミッション研究課題成果報告会
2. 松尾安浩・戒能智宏・川向 誠：自然界より有用酵母の探索 生物資源科学部ミッション研究課題成果報告会
3. 森山大輔・戒能智宏・鷺田元久・難波弘憲・川向 誠：コエンザイム Q₁₀ の高生産に向けた分裂酵母の組換え育種 第 66 回日本生物工学会大会 (2014)
4. 望月汐美・戒能智宏・川向 誠：天然に CoQ 欠損である分裂酵母 *S. japonicus* の特徴 日本コエンザイム Q 協会第 12 回研究会

受賞等

外部資金